

心停止ドナー肝移植におけるプロスタグランジンE1 含有冷保存前灌流の効果に関する研究

著者	米田 海
号	83
学位授与機関	Tohoku University
学位授与番号	医博第3280号
URL	http://hdl.handle.net/10097/58062

氏 名	まいだ かい 米田 海
学位の種類	博士(医学)
学位授与年月日	平成26年3月26日
学位授与の条件	学位規則第4条第1項
研究科専攻	東北大学大学院医学系研究科(博士課程)医科学専攻
学位論文題目	心停止ドナー肝移植におけるプロスタグランジン E1 含有冷保存前灌流の効果に関する研究
論文審査委員	主査 教授 大内 憲明 教授 後藤 昌史 教授 仁尾 正記

論文内容要旨

【目的】ex vivo の灌流実験において、常温酸素化バッファーによる30分間の冷保存前灌流(short oxygenated warm perfusion: SOWP)が、心停止下摘出肝グラフトのエネルギーステータスを改善し、温阻血再灌流障害を軽減することが報告されている。しかし、SOWPのみでは心拍動下摘出肝グラフトと同程度までの胆汁産生能の回復や細胞障害軽減は得られていないため、ビリベルジン・エダラボン・プロスタグランジン E1 (PGE1)などを灌流液中に添加して検討したところ、PGE1添加 SOWP が最も組織・細胞障害を改善した。これらの結果を踏まえ、本研究では、ラット肝移植を行い SOWP および PGE1 添加 SOWP の温阻血再灌流障害軽減効果を検証した。

【方法】同系ラット肝移植実験を、肝グラフトを心拍動下に摘出し冷保存した心拍動(heart-beating donor; HBD)群、温阻血後に摘出し冷保存した温阻血後無処置(Non-treatment; NT)群・温阻血後冷保存前灌流(SOWP)群・温阻血後 PGE1 添加冷保存前灌流(SOWP+PG)群に分けて行なった。温阻血群(NT・SOWP・SOWP+PG群)では死戦期を経て30分の温阻血後に肝グラフトを摘出し、6時間の冷保存後に移植した。SOWP群では温阻血肝摘出後に30分間常温酸素化バッファーで灌流し冷保存した。SOWP+PG群では SOWP 群と同様に肝グラフトを摘出し PGE1 (10ng/ml)を添加した灌流液で SOWP を行った。

実験1では、移植後1週間の生存率を比較検討し、実験2では、移植後1時間後のグラフト肝機能、肝細胞障害、血清中サイトカイン濃度等について比較検討した。

【結果】実験1では、HBD群、NT群、SOWP群、SOWP+PG群の1週間生存率はそれぞれ、100%、0%、83%、100%であり、SOWP群・SOWP+PG群でNT群に比較して有意に生存率の向上を認めた。実験2では、胆汁産生量・血清中肝逸脱酵素・血清中好中球接着因子が、SOWP・SOWP+PG両群で改善を示した。とくに SOWP+PG群では、グラフトの総体的機能の指標である胆汁産生量が、HBD群と同レベルまで増加していた。また、SOWP群では上昇を抑えられなかった再灌流障害増悪をもたらす High Mobility Group Box 1 (HMGB1) 血中濃度が SOWP+PG群では抑えられた。酸化ストレスの指標である malondialdehyde (MDA) の肝組織中濃度も SOWP+PG群で抑えられた。病理組織学的検討では、SOWP群・SOWP+PG群でネクロシス面積比率とアポトーシス細胞数の有意な減少を認め、特にアポトーシスは SOWP+PG群で強く抑制される傾向を認めた。

【結論】SOWP 及び PGE1 添加 SOWP が実際のラット肝移植において生存率を向上させることが示された。その背景には、細胞障害・細胞死の抑制が寄与し、肝細胞のエネルギーステータスのさらなる改善や微小循環の改善がその機序であると考えられた。PGE1 添加 SOWP は、心停止下摘出肝グラフトを用いた肝移植において有効な一手段となることが示唆された。

審査結果の要旨

博士論文題名 心停止ドナー肝移植におけるプロスタグランジン E1 含有冷保存前灌流の効果に関する研究

所属専攻・分野名 医科学専攻・先進外科学分野

氏名 米田 海

本研究は、心停止ドナーからの肝移植における問題点である温阻血再灌流障害の改善を目的とした研究であり、常温酸素化バッファーによる 30 分間の冷保存前灌流（short oxygenated warm perfusion: SOWP）、さらに灌流液中へのプロスタグランジン E1（PGE1）添加のもたらす効果について、ラットにおける肝移植実験により検討されているものである。

これまで SOWP および PGE1 の効果はラットの ex vivo の灌流実験で示唆されてきているが、本研究では同種間ラット肝移植モデルにより、心停止ドナーからの肝移植を受けたラットにおける生存率の比較と、SOWP および PGE1 の効果のメカニズム解析の両面で検証されている。すなわち、SOWP および PGE1 により生存率が心拍動下グラフト移植と同程度まで著明に改善され、その背景としては SOWP による微小循環障害の改善がメインにあることが明らかにされた。さらに PGE1 添加により ATP/ADP 比などのエネルギーステータス、胆汁産生能に関しても、心拍動下グラフト移植と同程度まで改善されることが示されており、SOWP の効果を PGE1 が後押しする可能性が示唆された。ただし、PGE1 は抗炎症効果が期待されたが、灌流液中への添加のみでは $\text{TNF}\alpha$ 、 $\text{IL-1}\beta$ といった炎症性サイトカインが抑制されないことも明らかになっている。

さらに、SOWP により好中球接着因子である ICAM1 が抑制されることも本研究により初めて示されており、レシピエント由来の好中球と接着分子の発現による障害を抑制する可能性も期待されている。

また、SOWP によって肝組織中の過酸化脂質濃度は上昇しないことが本研究で明らかになっており、常温で酸素化を行っても活性酸素産生が亢進しないことが示唆されている。

SOWP という、酸素キャリアを含まない晶質液による、短時間の簡便な灌流により生存率およびグラフト機能が心拍動下グラフト移植と同程度まで著明に改善したことは、有意義な知見であり、今後さらにメカニズムの研究及び灌流条件の最適化を進め、大動物実験・ひいてはヒトへの適応とつなげて行くことを期待する。

以上のように、本論文は、プロスタグランジン E1 含有前灌流が心停止ドナー肝移植の成功率を向上することを検証した新規性、実用性の高い研究であり、博士（医学）の学位論文として合格と認める。